

pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla

产品编号	产品名称	包装
D2809-1 μ g	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla	1 μ g
D2809-100 μ g	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla	100 μ g

产品简介:

- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla是碧云天研发的用于在哺乳动物细胞中同时表达目的蛋白、增强绿色荧光蛋白EGFP和灭瘟素S (Blasticidin S)抗性基因的表达质粒。
- 本质粒含有的CMV启动子可以高效启动目的基因的表达，同时可以通过P2A共表达增强绿色荧光蛋白EGFP，便于通过EGFP的荧光特性监测目的蛋白的表达情况。本质粒的表达效果可以参考图1。

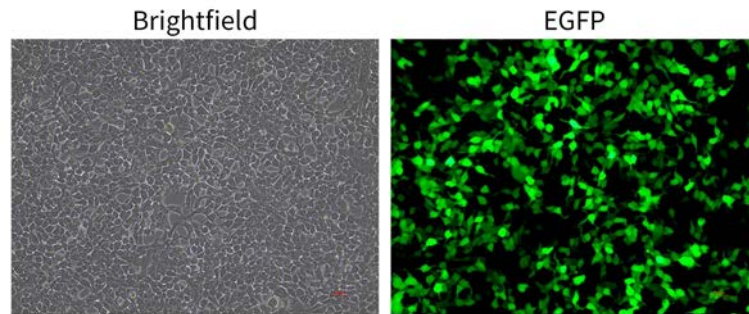
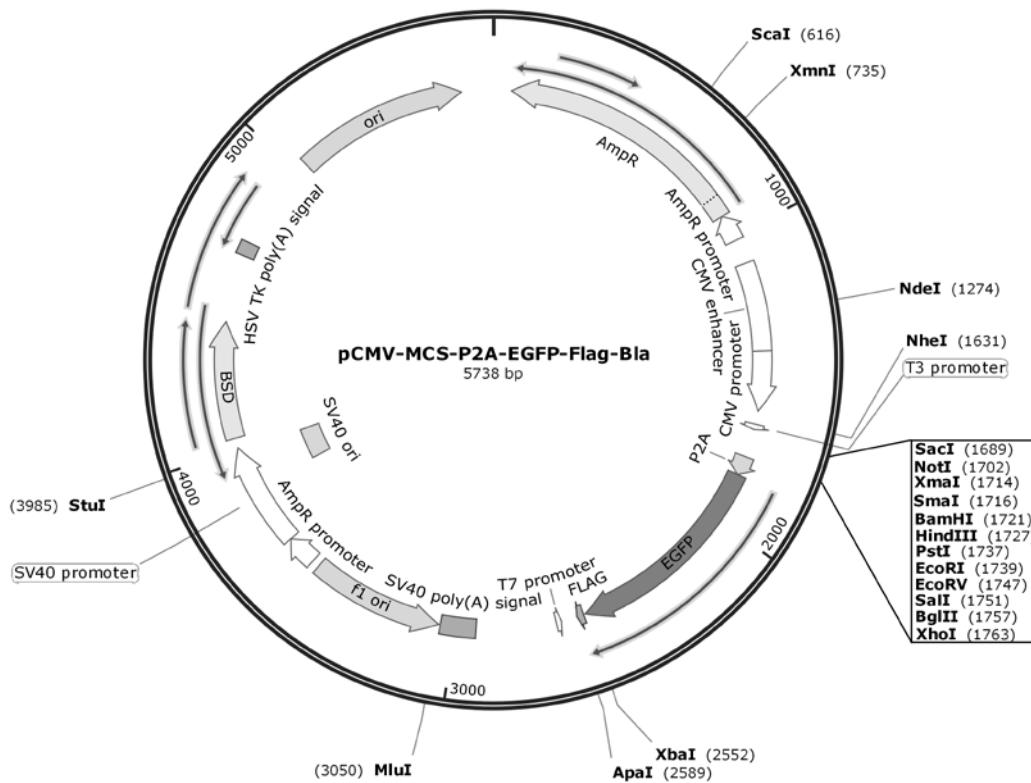


图1. 碧云天pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla质粒使用Lipo8000™转染试剂(C0533)转染293T细胞后的表达效果图。左侧为明场照片，右侧为荧光照片。本图仅供参考，实际拍摄效果会因具体实验条件的不同而有所不同。

- 本质粒在多克隆位点和EGFP的编码序列之间含有P2A肽序列。P2A是一个可以被理解为含有19个氨基酸残基(ATNFSLLKQAGDVEENPGP)的“自剪切”小肽。但实际的过程并不是发生自剪切，而是使核糖体跳过P2A等2A元件C端的甘氨酸和脯氨酸肽键的合成而发挥作用，最终导致2A序列末端和下游产物分离。上游目的基因表达蛋白的C端将会添加一些额外的P2A残基(GSGATNFSLLKQAGDVEENPG)，而下游蛋白的N端将会有额外的脯氨酸。在P2A肽的N端加入GSG序列，可提高剪切效率 [1,2]。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)和灭瘟素S (Blasticidin S)抗性。可利用其氨苄青霉素抗性，转化大肠杆菌后筛选阳性克隆。转染哺乳动物细胞后，可使用Blasticidin S (ST018)筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla质粒的主要信息如下：

Feature	Nucleotide	Position
AmpR		63-923
AmpR promoter		924-1016
CMV enhancer		1101-1404
CMV promoter		1405-1608
T3 promoter		1654-1672
P2A		1769-1834
EGFP		1835-2551
FLAG		2558-2581
T7 promoter		2636-2654
SV40 poly(A) signal		2928-3049
f1 ori		3056-3511
AmpR promoter		3538-3642
SV40 promoter		3644-4001
SV40 ori		3852-3987
BSD		4036-4434
HSV TK poly(A) signal		4666-4713

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla质粒(5738bp)的图谱如下:



➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla的多克隆位点的详细图谱如下:

SacI

1651 CGAAATTAAC CCTCACTAAA GGGAACAAAA GCTGGAGCTC CACCGCGGTG
GCTTTAATTG GGAGTGATTT CCCTTGTTTT CGACCTCGAG GTGGCGCCAC

XmaI PstI

NotI SmaI BamHI HindIII EcoRI EcoRV

1701 GCGGCCGCTC TAGCCCGGGC GGATCCAAGC TTCTGCAGGA ATTCGATATC
CGCCGGCGAG ATCGGGCCCG CCTAGGTTTCG AAGACGTCCT TAAGCTATAG

P2A sequence

SalI BglIII XhoI G S G A T N F S L L K

1751 GTCGACAGAT CTCTCGAGGG AAGCGGAGCT ACTAACTTCA GCCTGCTGAA
CAGCTGTCTA GAGAGCTCCC TTCGCCTCGA TGATTGAAGT CGGACGACTT

Q A G D V E E N P G P EGFP sequence

1801 GCAGGCTGGA GACGTGGAGG AGAACCCCTGG ACCTATGGTG AGCAAGGGCG
CGTCCGACCT CTGCACCTCC TCTTGGGACC TGGATAACCAC TCGTTCCCGC

1851 AGGAGCTGTT CACCGGGGTG GTGCCCATCC TGGTCGAGCT GGACGGCGAC
TCCTCGACAA GTGGCCCCAC CACGGGTAGG ACCAGCTCGA CCTGCCGCTG

1901 GTAAACGGCC ACAAGTTCAG CGTGTCCGGC GAGGGCGAGG GCGATGCCAC
CATTTGCCGG TGTTC AAGTC GCACAGGCCG CTCCCCTCC CGCTACGGTG

1951 CTACGGCAAG CTGACCCTGA AGTTCATCTG CACCACCGGC AAGCTGCCCG
GATGCCGTTT GACTGGGACT TCAAGTAGAC GTGGTGGCCG TTCGACGGGC

2001 TGCCCTGGCC CACCCTCGTG ACCACCCTGA CCTACGGCGT GCAGTGCTTC
ACGGGACCGG GTGGGAGCAC TGGTGGGACT GGATGCCGCA CGTCACGAAG

2051 AGCCGCTACC CCGACCACAT GAAGCAGCAC GACTTCTTCA AGTCCGCCAT
TCGGCGATGG GGCTGGTGTA CTTCGTCGTG CTGAAGAAGT TCAGGCGGTA

2101 GCCCGAAGGC TACGTCCAGG AGCGCACCAT CTTCTTCAAG GACGACGGCA
CGGGCTTCCG ATGCAGGTCC TCGCGTGGTA GAAGAAGTTC CTGCTGCCGT

2151 ACTACAAGAC CCGCGCCGAG GTGAAGTTCG AGGGCGACAC CCTGGTGAAC
TGATGTTCTG GGCGCGGCTC CACTTCAAGC TCCCGCTGTG GGACCACTTG

2201 CGCATCGAGC TGAAGGGCAT CGACTTCAAG GAGGACGGCA ACATCCTGGG
GCGTAGCTCG ACTTCCCGTA GCTGAAGTTC CTCCTGCCGT TGTAGGACCC

2251 GCACAAGCTG GAGTACAAC TACAACAGCCA CAACGTCTAT ATCATGGCCG
CGTGTTCGAC CTCATGTTGA TGTGTGCGGT GTTGCAGATA TAGTACCGGC

2301 ACAAGCAGAA GAACGGCATC AAGGTGAACT TCAAGATCCG CCACAACATC
TGTTCTGCTT CTTGCCGTAG TTCCACTTGA AGTTCTAGGC GGTGTTGTAG

2351 GAGGACGGCA GCGTGCAGCT CGCCGACCAC TACCAGCAGA ACACCCCAT
CTCCTGCCGT CGCACGTCGA GCGGCTGGTG ATGGTCTGCT TGTGGGGGTA

2401 CGGCGACGGC CCCGTGCTGC TGCCCGACAA CCACTACCTG AGCACCAGT
GCCGCTGCCG GGGCACGACG ACGGGCTGTT GGTGATGGAC TCGTGGGTCA

2451 CCGCCCTGAG CAAAGACCCC AACGAGAAGC GCGATCACAT GGTCCCTGCTG
GGCGGGACTC GTTTCTGGGG TTGCTCTTCG CGCTAGTGTA CCAGGACGAC

2501 GAGTTCGTGA CCGCCGCCGG GATCACTCTC GGCATGGACG AGCTGTACAA
CTCAAGCACT GCGGCGGCC CTAGTGAGAG CCGTACCTGC TCGACATGTT

Flag tag

XbaI | P Y K D D D D K ApaI

2551 GTCTAGAGAT TACAAGGATG ACGACGATAA GTAAGGGCCC GGTACCTTAA
CAGATCTCTA ATGTTCTTAC TGCTGCTATT CATTCCCGGG CCATGGAATT

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla中没有的酶切位点包括:

AarI	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AfeI	AflII
AgeI	AhlI	Aor13HI	Aor51HI	AscI	AsiGI	AsiSI
AspI	BaeI	BbeI	BbrPI	BbvCI	BcuI	BfrI
BoxI	BseAI	BsePI	BshTI	BsiWI	Bsp13I	BspEI
BspQI	BspTI	BssHII	BssNAI	Bst98I	Bst1107I	BstAFI
BstEII	BstENI	BstPI	BstPAI	BstZ17I	CpoI	CspI
CspAI	DinI	Eco47III	Eco72I	Eco91I	EcoNI	EcoO65I
EgeI	EheI	FseI	FspAI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI
KasI	KflI	Kpn2I	LguI	MauBI	Mly113I	MreI
MrOI	MspCI	MssI	NarI	PalAI	PauI	PciSI
Pfl123II	PflFI	PflMI	PI-PspI	PI-SceI	PinAI	PluTI
PmaCI	PmeI	PmlI	PshAI	PspCI	PspEI	PspLI
PspXI	PsrI	PsyI	PteI	RgaI	RigI	RsrII
Rsr2I	SanDI	SapI	SbfI	SdaI	SfaAI	SfoI
SgfI	SgrAI	SgrDI	SgsI	SmiI	SpeI	Sse8387I
SspDI	SwaI	Tth111I	Van91I	Vha464I	XagI	XcmI

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla中的单酶切位点包括:

AccI	GT`MK,AC	1752	MfeI	C`AATT,G	2914
AhdI	GACNN,N`NNGTC	136	MluI	A`CGCG,T	3050
ApaI	G,GGCC`C	2589	MscI	TGG CCA	4039
BamHI	G`GATC,C	1721	NdeI	CA`TA,TG	1274
BbsI	GAAGACNN`NNNN,	4121	NheI	G`CTAG,C	1631
BclI	T`GATC,A	2821	NotI	GC`GGCC,GC	1702
BfuAI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4486	NruI	TCG CGA	4267

BglII	A`GATC, T	1757	Paer7I	C`TCGA, G	1763
BlnI	GC`TNA, GC	4431	PciI	A`CATG, T	5686
BmgBI	CAC GTC	1813	PpuMI	RG`GWC, CY	4195
BmtI	G, CTAG`C	1635	PspOMI	G`GGCC, C	2585
BsaXI	, NNN` (N) ₉ ACNNNNNCTCCNNNNNNN, NNN`	3214	PstI	C, TGCA`G	1737
BsmBI	CGTCTCN`NNNN,	1803	SacI	G, AGCT`C	1689
BspDI	AT`CG, AT	4004	SacII	CC, GC`GG	1696
BspMI	ACCTGCNNNN`NNNN,	4486	SalI	G`TCGA, C	1751
BsrGI	T`GTAC, A	2544	ScaI	AGT ACT	616
BstBI	TT`CG, AA	4450	SfiI	GGCCN, NNN`NGGCC	3939
BstXI	CCAN, NNNN`NTGG	1697	SmaI	CCC GGG	1716
ClaI	AT`CG, AT	4004	SnaBI	TAC GTA	1380
DraIII	CAC, NNN`GTG	3280	SrfI	GCCC GGGC	1716
EarI	CTCTCN`NNN,	931	StuI	AGG CCT	3985
Eco53kI	GAG CTC	1687	TspMI	C`CCGG, G	1714
EcoRI	G`AATT, C	1739	XbaI	T`CTAG, A	2552
EcoRV	GAT ATC	1803	XhoI	C`TCGA, G	1763
Esp3I	CGTCTCN`NNNN,	1727	XmaI	C`CCGG, G	1714
HindIII	A`AGCT, T	2927	XmnI	GAANN NNTTC	735
HpaI	GTT AAC	2927			

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla质粒中对插入片段进行测序时，推荐使用的正向测序引物T3和反向测序引物EGFP primer的序列如下：

T3 primer (1654-1672): 5' AATTAACCCTCACTAAAGG 3'

EGFP primer (1837-1853): 5' CCTCGCCCTTGCTCACC 3'

➤ pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D2809-1μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla	1μg
D2809-100μg	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla	100μg
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存。

注意事项：

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Bla质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的目的基因，需注意插入基因片段和tag之间的读码框要一致，即需要避免发生移码突变。构建的质粒可以用常规方法转染细胞。

参考文献：

1. Kim JH, Lee SR, Li LH, Park HJ, Park JH, et al. PLoS One. 2011. 6(4):e18556.
2. Ryan MD, King AM, Thomas GP. J Gen Virol. 1991. 72(11):2727-32.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST018-10mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg
ST018-1ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×1ml
ST018-50mg	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	50mg
ST018-5ml	Blasticidin S HCl (灭瘟素S)	10mg/ml×5ml
C0533-0.5ml	Lipo8000™转染试剂	0.5ml
C0533-1.5ml	Lipo8000™转染试剂	1.5ml
C0533-7.5ml	Lipo8000™转染试剂	7.5ml
D2633	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Neo	1μg/100μg

D2640	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Neo	1µg/100µg
D2673	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Neo	1µg/100µg
D2723	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Neo	1µg/100µg
D2734	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Neo	1µg/100µg
D2738	pCMV-N-His-MCS-P2A-EGFP-Neo	1µg/100µg
D2757	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Neo	1µg/100µg
D2795	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1µg/100µg
D2796	pCMV-N-HA-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1µg/100µg
D2797	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Hyg	1µg/100µg
D2798	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Flag-Hyg	1µg/100µg
D2799	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-mCherry-Pur	1µg/100µg
D2801	pCMV-N-HA-MCS-P2A-mCherry-Pur	1µg/100µg
D2803	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-mCherry-Pur	1µg/100µg
D2807	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Bla	1µg/100µg
D2808	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Bla	1µg/100µg
D2810	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1µg/100µg
D2811	pCMV-N-HA-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1µg/100µg
D2812	pCMV-N-Myc-MCS-P2A-EGFP-Zeo	1µg/100µg
D2813	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Flag-Zeo	1µg/100µg
D2814	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Bla	1µg/100µg
D2819	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Bla	1µg/100µg
D2822	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Hyg	1µg/100µg
D2823	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Myc-Hyg	1µg/100µg
D2824	pCMV-MCS-P2A-mCherry-HA-Pur	1µg/100µg
D2825	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Myc-Pur	1µg/100µg
D2826	pCMV-MCS-P2A-mCherry-Flag-Pur	1µg/100µg
D2827	pCMV-N-Flag-MCS-P2A-EGFP-Bla	1µg/100µg
D2828	pCMV-MCS-P2A-EGFP-HA-Zeo	1µg/100µg
D2829	pCMV-MCS-P2A-EGFP-Myc-Zeo	1µg/100µg

Version 2022.03.21